

## 日 本 国 特 許 庁

PATENT OFFICE  
JAPANESE GOVERNMENT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日

Date of Application:

1999年 1月29日

出 願 番 号

Application Number:

平成11年特許願第023245号

出 願 人

Applicant(s):

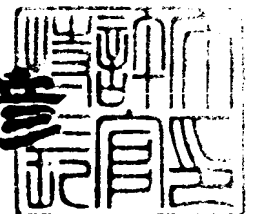
アマシャム ファルマシア バイオテック株式会社

PRIORITY  
DOCUMENTSUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
ORIGINAL FORM TO THE JAPANESE  
PATENT OFFICE ON 1999-01-29

2000年 3月 3日

特許庁長官  
Commissioner,  
Patent Office

近 藤 隆 彦



出証番号 出証特2000-301159

【書類名】 特許願

【整理番号】 982364

【提出日】 平成11年 1月29日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 C08F

【発明者】

【住所又は居所】 東京都品川区戸越 1 - 1 5 - 1 8

【氏名】 秋山 義勝

【発明者】

【住所又は居所】 東京都台東区三ノ輪 1 - 1 8 - 9 2 0 3 号

【氏名】 吉廻 公博

【発明者】

【住所又は居所】 千葉県市川市中国分 5 - 9 - 1 1

【氏名】 長谷川 幸雄

【発明者】

【住所又は居所】 千葉県市川市国府台 6 - 1 2 - 1 2

【氏名】 岡野 光夫

【特許出願人】

【識別番号】 597145779

【氏名又は名称】 アマシャム ファルマシア バイオテク株式会社

【代理人】

【識別番号】 100089705

【住所又は居所】 東京都千代田区大手町二丁目 2 番 1 号 新大手町ビル 2  
0 6 区 ユアサハラ法律特許事務所

【弁理士】

【氏名又は名称】 社本 一夫

【選任した代理人】

【識別番号】 100071124

【弁理士】

【氏名又は名称】 今井 庄亮

【選任した代理人】

【識別番号】 100076691

【弁理士】

【氏名又は名称】 増井 忠次

【選任した代理人】

【識別番号】 100075236

【弁理士】

【氏名又は名称】 栗田 忠彦

【選任した代理人】

【識別番号】 100075270

【弁理士】

【氏名又は名称】 小林 泰

【選任した代理人】

【識別番号】 100096013

【弁理士】

【氏名又は名称】 富田 博行

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 051806

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【ブルーフの要否】 要

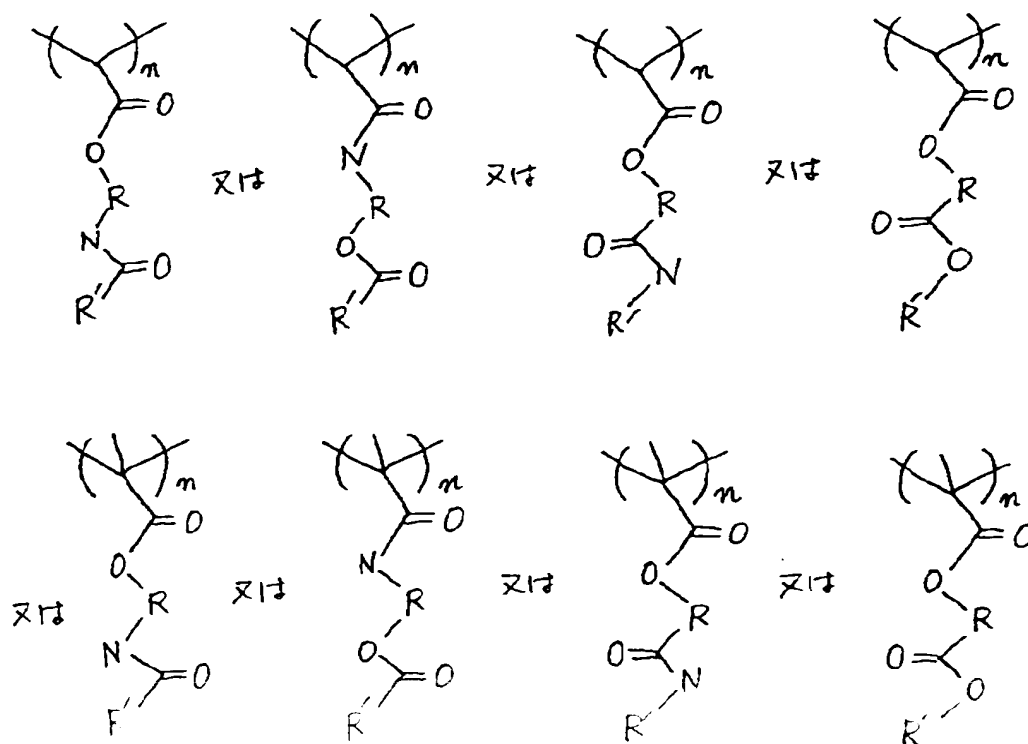
【書類名】 明細書

【発明の名称】 熱応答性高分子材料およびその製造法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 下式

【化 1】



(式中、Rは炭素数1～8の直鎖または分岐の2価の脂肪族炭化水素基、炭素数3～8の2価の脂環式炭化水素基または炭素数6～14の2価の芳香族炭化水素基を示し、R'は炭素数1～8の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、1個または2個以上の水酸基を有する炭素数1～8の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、1個または2個以上の酸アミド結合および／またはエステル結合を有する炭素数2～9の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、または1個または2個以上の酸アミド結合および／またはエステル結合を有し、かつ1個または2個以上の水酸基を含む炭素数3～9の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基を示し、nは2以上の整数を表す)で表される高分子化合物。

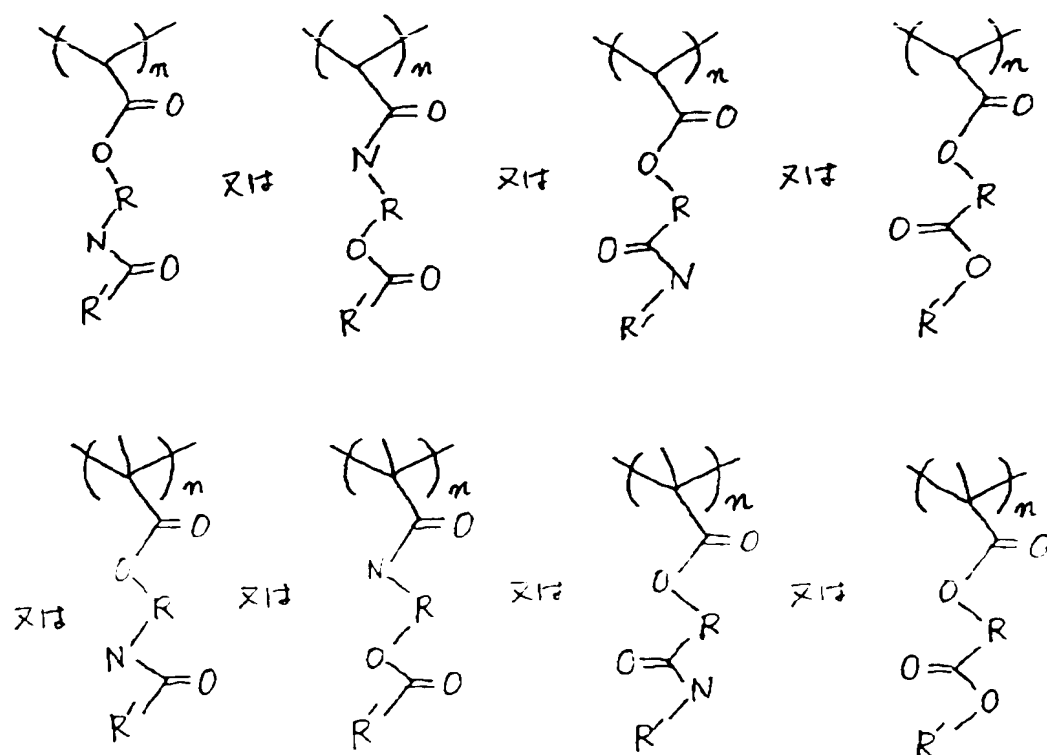
【請求項 2】 高分子鎖末端に官能基を有する請求項1記載の高分子化合物

【請求項 3】 官能基がカルボキシル基、アミノ基およびヒドロキシル基からなる群より選択される 1 個以上の基である請求項 2 記載の高分子化合物。

【請求項 4】 酸アミド結合を高分子側鎖に 2 カ所以上有する請求項 1 ないし 3 のいずれか 1 項記載の高分子化合物。

【請求項 5】 下式

【化 2】



(式中、Rは炭素数 1～8 の直鎖または分岐の 2 価の脂肪族炭化水素基、炭素数 3～8 の 2 価の脂環式炭化水素基または炭素数 6～14 の 2 価の芳香族炭化水素基を示し、R' は炭素数 1～8 の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、1 個または 2 個以上の水酸基を有する炭素数 1～8 の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、1 個または 2 個以上の酸アミド結合および／またはエステル結合を有する炭素数 2～9 の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、または 1 個または 2 個以上の酸アミド結合および／またはエステル結合を有し、かつ 1 個または 2 個以上の水酸基を含む炭素数 3～9 の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基を示し、n は 2 以上

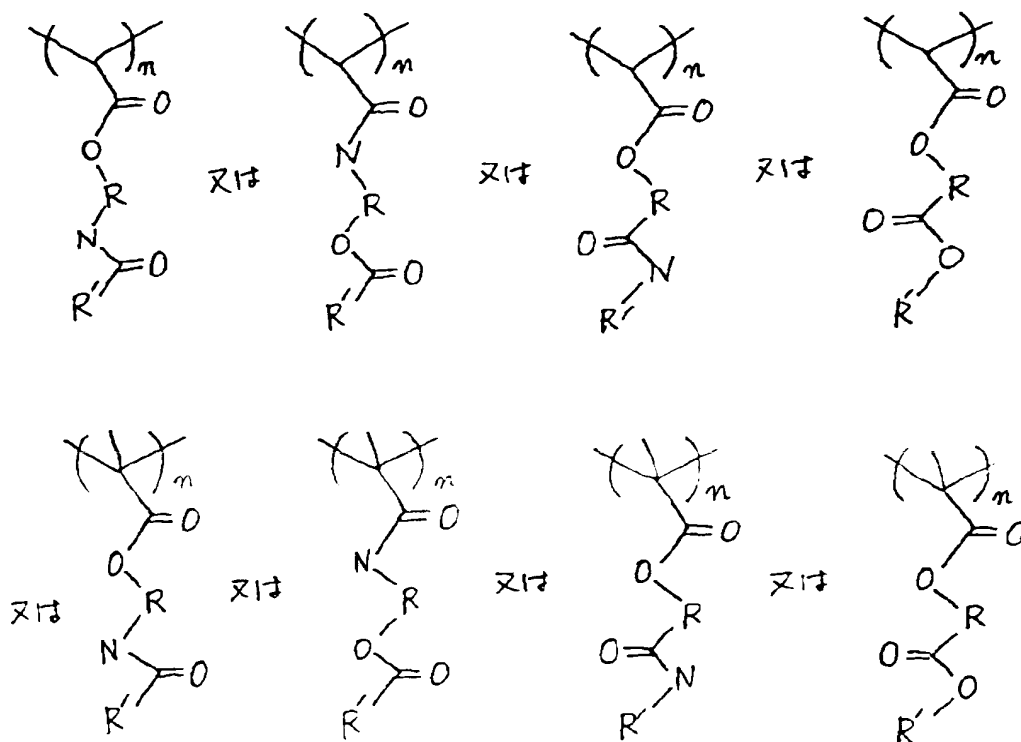
の整数を表す)で表される高分子化合物を含み、水溶液中で温度変化により曇点を示す熱応答性高分子材料。

【請求項6】 酸アミド結合を1カ所以上および／またはエステル結合を1カ所以上高分子側鎖に有する、請求項5記載の熱応答性高分子材料。

【請求項7】 曇点を堺にして親水性、疎水性の極性が変化し、pH濃度、塩濃度もしくはRおよびR'の大きさに曇点および極性が制御できる請求項5または6記載の熱応答性高分子材料。

【請求項8】 下式

【化3】



(式中、Rは炭素数1～8の直鎖または分岐の2価の脂肪族炭化水素基、炭素数3～8の2価の脂環式炭化水素基または炭素数6～14の2価の芳香族炭化水素基を示し、R'は炭素数1～8の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、1個または2個以上の水酸基を有する炭素数1～8の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、1個または2個以上の酸アミド結合および／またはエステル結合を有する炭素数2～9の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、または1個または2個以上の酸

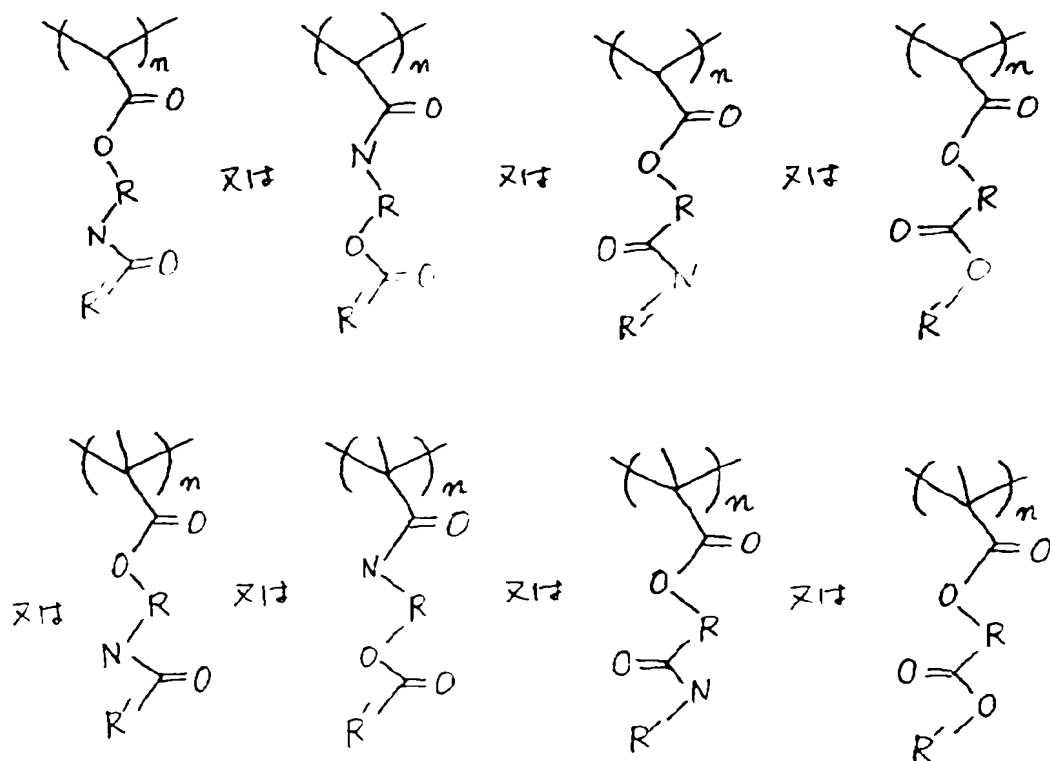
アミド結合および／またはエステル結合を有し、かつ 1 個または 2 個以上の水酸基を含む炭素数 3～9 の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基を示し、 $n$  は 2 以上の整数を表す）で表される高分子化合物を含み、水溶液中で温度変化により曇点を示す熱応答性高分子材料を含むクロマトグラフィー用充填剤。

【請求項 9】 酸アミド結合とエステル結合を高分子側鎖にそれぞれ一か所以上有する、請求項 8 記載のクロマトグラフィー用充填剤。

【請求項 10】 請求項 8 記載のクロマトグラフィー用充填剤よりなる固定相に物質を保持させた後、外部温度を段階的に変化させる温度グラディエント法により固定相表面の親水性／疎水性のバランスを変化させ、同一の移動相を通過させることによって物質を分離することを特徴とする物質の分離方法。

【請求項 11】 下式

【化 4】



（式中、 $R$  は炭素数 1～8 の直鎖または分岐の 2 価の脂肪族炭化水素基、炭素数 3～8 の 2 価の脂環式炭化水素基または炭素数 6～14 の 2 価の芳香族炭化水素基を示し、 $R'$  は炭素数 1～8 の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、1 個また

は 2 個以上の水酸基を有する炭素数 1 ~ 8 の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、1 個または 2 個以上の酸アミド結合および／またはエステル結合を有する炭素数 2 ~ 9 の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、または 1 個または 2 個以上の酸アミド結合および／またはエステル結合を有し、かつ 1 個または 2 個以上の水酸基を含む炭素数 3 ~ 9 の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基を示し、 $n$  は 2 以上の整数を表す) で表される高分子化合物の製造方法であって、

(1) 2-アミノエチルメタクリレイトのような一級アミノ基を有するモノマーを無水酸もしくはラクトンと反応させて得られる生成物を精製し、溶媒中で重合反応に付する、

(2) 水酸基を有するモノマーと酸クロライドと反応させて得られる生成物を精製し、溶媒中で重合反応に付する、

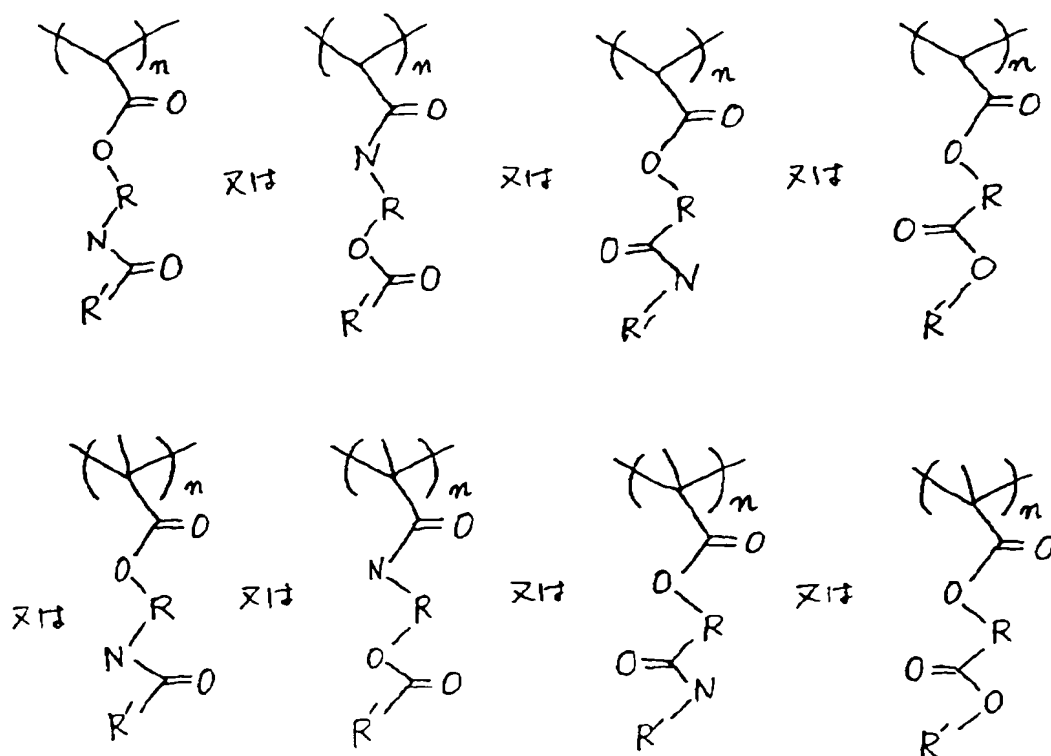
(3) アルキルアミノアルコールを無水酸と反応させて得られる反応生成物をアクリル酸クロライドもしくはメタクリル酸クロライドを反応させて得られる生成物を精製し、溶媒中で重合反応に付する、または

(4) ポリ-2-アミノエチルメタクリレイトのような一級アミノ基を有するポリマーまたはその塩酸塩を合成して、トリエチルアミンを含む溶媒中で無水酸もしくはラクトンと反応させる、のいずれかの方法を用いることを特徴とする前記製造方法。

【請求項 1 2】 下式



【化 5】



(式中、Rは炭素数1～8の直鎖または分岐の2価の脂肪族炭化水素基、炭素数3～8の2価の脂環式炭化水素基または炭素数6～14の2価の芳香族炭化水素基を示し、R'は炭素数1～8の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、1個または2個以上の水酸基を有する炭素数1～8の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、1個または2個以上の酸アミド結合および／またはエステル結合を有する炭素数2～9の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、または1個または2個以上の酸アミド結合および／またはエステル結合を有し、かつ1個または2個以上の水酸基を含む炭素数3～9の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基を示し、nは2以上の整数を表す)で表される高分子化合物が酸アミド結合を高分子側鎖に2カ所以上有する生体試料の分離、吸着材料。

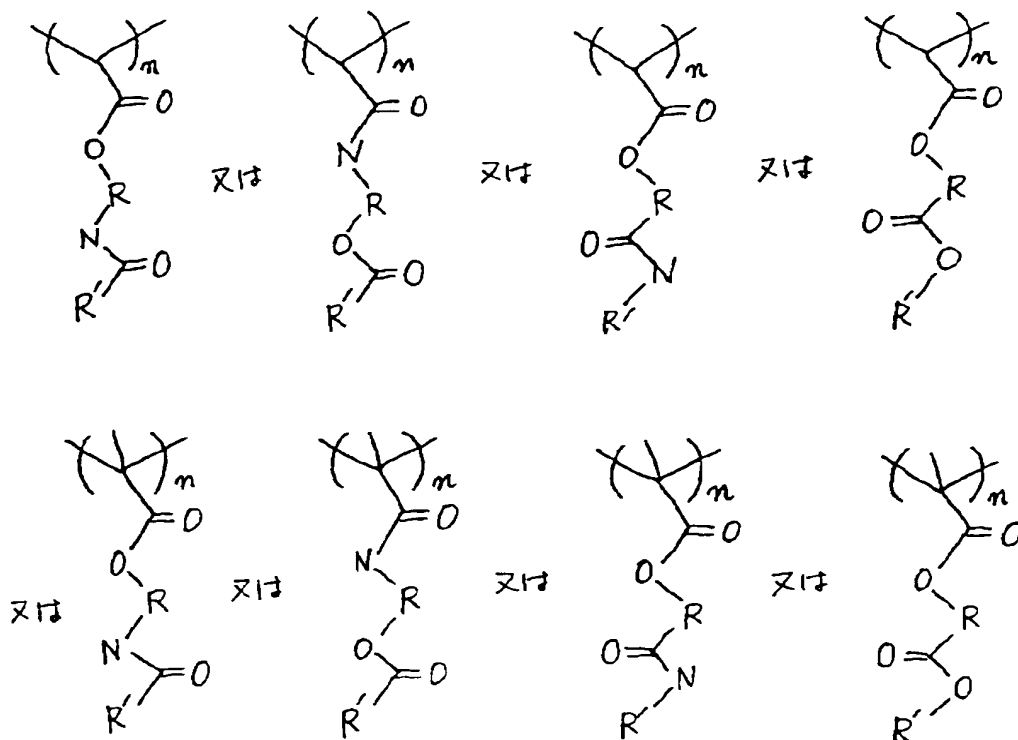
【請求項 13】 高分子鎖末端に官能基を有する請求項 12 記載の生体試料の分離、吸着材料。

【請求項 14】 官能基がカルボキシル基、アミノ基およびヒドロキシル基からなる群より選択される 1 個以上の基である請求項 13 記載の生体試料の分離

、吸着材料。

【請求項 15】 下式

【化 6】



(式中、 $R$ は炭素数1～8の直鎖または分岐の2価の脂肪族炭化水素基、炭素数3～8の2価の脂環式炭化水素基または炭素数6～14の2価の芳香族炭化水素基を示し、 $R'$ は炭素数1～8の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、1個または2個以上の水酸基を有する炭素数1～8の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、1個または2個以上の酸アミド結合および／またはエステル結合を有する炭素数2～9の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、または1個または2個以上の酸アミド結合および／またはエステル結合を有し、かつ1個または2個以上の水酸基を含む炭素数3～9の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基を示し、 $n$ は2以上の整数を表す)で表される高分子化合物が酸アミド結合を高分子側鎖に2カ所以上有する生体試料の分離、吸着材料よりなる、固定相に生体試料を保持させた後、外部温度を変化させることにより親水性、疎水性のバランスを変化させて、細胞などの生体試料を吸着、分離させることを特徴とする物質の分離方法。

【請求項 1 6】 高分子鎖末端に官能基を有する請求項 1 5 記載の物質の分離方法。

【請求項 1 7】 官能基がカルボキシル基、アミノ基およびヒドロキシル基からなる群より選択される 1 個以上の基である請求項 1 6 記載の物質の分離方法。

【発明の詳細な説明】

【0 0 0 1】

【発明の属する技術分野】

本発明は、温度変化により高分子自身の極性変化と共に高分子が伸縮、凝集を起こす新規な高分子化合物およびその製造法、該化合物を含む熱応答性高分子材料、該熱応答性高分子材料を含む材料による分離方法、該材料を用いる化学物質、タンパク質、ペプチドなどの生体高分子物質および細胞などの生体試料の分離方法に関するものである。

【0 0 0 2】

【従来の技術】

エステル結合もしくは酸アミド結合を有する熱応答性高分子材料として、代表的なものはポリビニルアルコールの部分酸化物やN-イソプロピルアクリルアミドの系列が知られる。エステル結合系もしくはアルキルアミド系の高分子では、一般的には側鎖の炭素数が大きくなることで、曇点が徐々に低くなることが知られている。そのため、アルキルアミド系の熱応答性高分子では炭素数の大きな側鎖を有する熱応答性高分子が合成できない。また、エステル結合系およびアルキルアミド結合系の高分子では十分な極性をすべてのタンパク質分離に関して提供することが困難である。

【0 0 0 3】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、炭素数の大きな側鎖を有する熱応答性高分子が合成するため、酸アミド結合とエステル結合を側鎖に 1 か所以上ずつ導入することで、炭素数の大きな側鎖を有し、様々な極性を有する熱応答性材料とその製造法を提供することを目的とする。また、本発明は、かかる熱応答性高分子を様々な極性を有するタン

パク質や化学物質もしくはバイオプロダクトや細胞などの生体試料の分離、精製へ応用することを目的とする。

【0004】

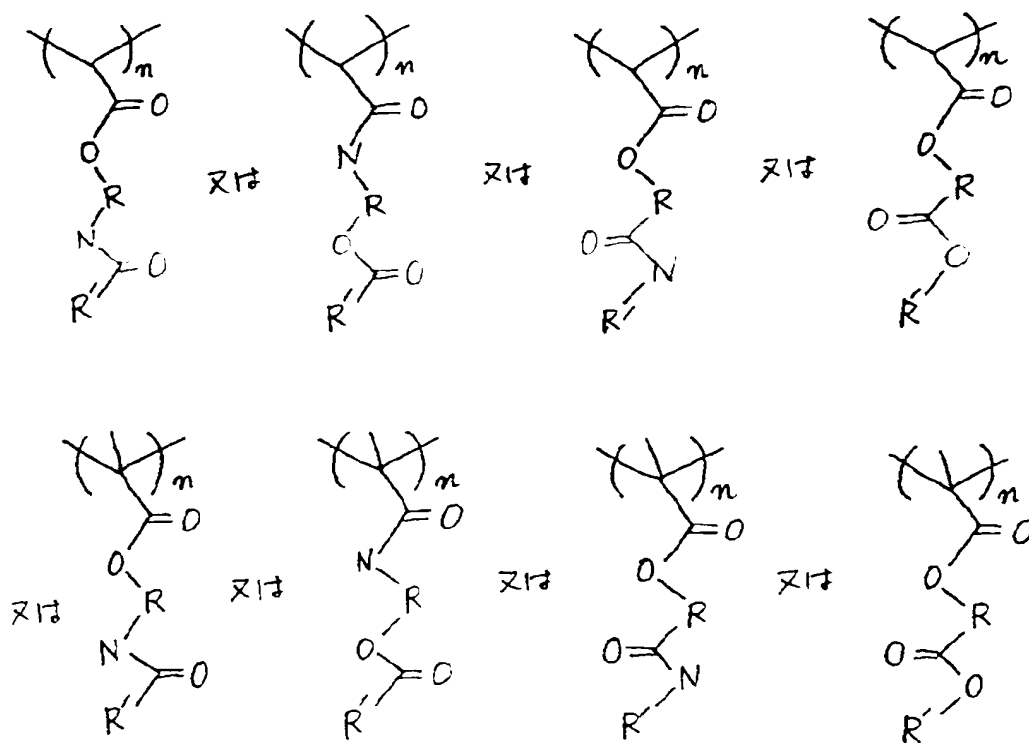
【課題を解決するための手段】

本発明者らは、側鎖に大きな炭素数を有する熱応答性高分子材料を合成するために、側鎖に1カ所以上にエステル基と酸アミド基をそれぞれ導入して、大きな炭素数の側鎖を導入した材料を製造し、これが熱応答性を示すとともに様々な極性を有することを見いだした。また、本発明者らは、この材料が様々な極性を有するタンパク質およびペプチド等のバイオプロダクト分離へ応用することができることを見いだした。本発明はかかる知見に基づいて完成したものである。

【0005】

すなわち、本発明は、下式

【化7】



(式中、Rは炭素数1～8の直鎖または分岐の2価の脂肪族炭化水素基、炭素数3～8の2価の脂環式炭化水素基または炭素数6～14の2価の芳香族炭化水素

基を示し、R' は炭素数 1～8 の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、1 個または 2 個以上の水酸基を有する炭素数 1～8 の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、1 個または 2 個以上の酸アミド結合および／またはエステル結合を有する炭素数 2～9 の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、または 1 個または 2 個以上の酸アミド結合および／またはエステル結合を有し、かつ 1 個または 2 個以上の水酸基を含む炭素数 3～9 の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基を示し、n は 2 以上の整数を表す) で表される高分子化合物を提供する。

#### 【0006】

また、本発明は、上記式で表される高分子化合物を含み、水溶液中で温度変化により曇点を示す熱応答性高分子材料を提供する。

さらに、本発明は、上記式で表される高分子化合物を含み、水溶液中で温度変化により曇点を示す熱応答性高分子材料を含むクロマトグラフィー用充填剤を提供する。

加えて、本発明は、上記クロマトグラフィー用充填剤よりなる固定相に物質を保持させた後、外部温度を段階的に変化させる温度グラディエント法により固定相表面の親水性／疎水性のバランスを変化させ、同一の移動相を通過させることによって物質を分離することを特徴とする物質の分離方法を提供する。

さらに加えて、本発明は、(1) 2-アミノエチルメタクリレートのような一級アミノ基を有するモノマーを無水酸もしくはラクトンと反応させて得られる生成物を精製し、溶媒中で重合反応に付する、(2) 水酸基を有するモノマーと酸クロライドと反応させて得られる生成物を精製し、溶媒中で重合反応に付する、(3) アルキルアミノアルコールを無水酸と反応させて得られる反応生成物をアクリル酸クロライドもしくはメタクリル酸クロライドを反応させて得られる生成物を精製し、溶媒中で重合反応に付する、または(4) ポリ-2-アミノエチルメタクリレートのような一級アミノ基を有するポリマーまたはその塩酸塩を合成して、トリエチルアミンを含む溶媒中で無水酸もしくはラクトンと反応させる、のいずれかの方法を用いることを特徴とする上記式で表される高分子化合物の製造方法を提供する。

さらに、本発明は、上記式で表される高分子化合物が酸アミド結合を高分子側

鎖に2カ所以上有する生体試料の分離、吸着材料を提供する。

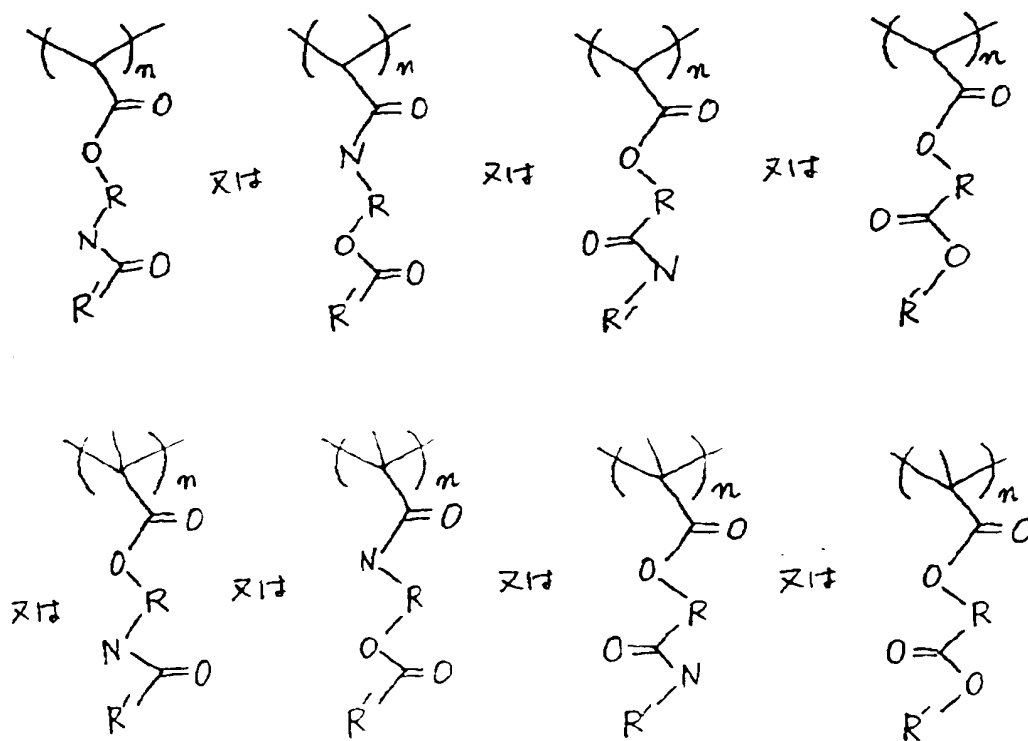
さらに加えて、本発明は、上記式で表される高分子化合物が酸アミド結合を高分子側鎖に2カ所以上有する生体試料の分離、吸着材料よりなる、固定相に生体試料を保持させた後、外部温度を変化させることにより親水性、疎水性のバランスを変化させて、細胞などの生体試料を吸着、分離させることを特徴とする物質の分離方法を提供する。

【0007】

【発明の実施の形態】

本発明に係る高分子化合物は以下に示す構造を有する。

【化8】



式中、Rは炭素数1～8の直鎖または分岐の2価の脂肪族炭化水素基、炭素数3～8の2価の脂環式炭化水素基または炭素数6～14の2価の芳香族炭化水素基を示し、R'は炭素数1～8の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、1個または2個以上の水酸基を有する炭素数1～8の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、1個または2個以上の酸アミド結合および／またはエステル結合を有する炭素

数 2～9 の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、または 1 個または 2 個以上の酸アミド結合および／またはエステル結合を有し、かつ 1 個または 2 個以上の水酸基を含む炭素数 3～9 の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基を示し、n は 2 以上の整数を表す。

## 【0008】

本発明において、炭素数 1～8 の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基とは炭素数 1～8 の直鎖または分岐のアルキル基、炭素数 2～8 の直鎖または分岐のアルケニル基、炭素数 2～8 の直鎖または分岐のアルキニル基のいずれかを意味し、アルケニル基の二重結合の数およびアルキニル基の三重結合の数はそれぞれ 1 または 2 以上である。好ましいアルキル基の例としてはメチル基、エチル基、n-プロピル基、i-プロピル基、n-ブチル基、i-ブチル基、s-ブチル基およびt-ブチル基を、好ましいアルケニル基の例としてはビニル基、1-プロペニル基、2-プロペニル基（アリル基）、1-ブテニル基、2-ブテニル基および 3-ブテニル基を、好ましいアルキニル基の例としてはエチニル基、1-プロピニル基、2-プロピニル基（プロパルギル基）、1-ブチニル基および 2-ブチニル基を挙げることができる。

## 【0009】

本発明において、炭素数 1～8 の直鎖または分岐の 2 価の脂肪族炭化水素基とは炭素数 1～8 の直鎖または分岐の 2 価のアルキル基、炭素数 2～8 の直鎖または分岐の 2 価のアルケニル基、炭素数 2～8 の直鎖または分岐の 2 価のアルキニル基のいずれかを意味し、アルケニル基の二重結合の数およびアルキニル基の三重結合の数はそれぞれ 1 または 2 以上である。好ましい炭素数 1～8 の直鎖または分岐の 2 価のアルキル基の例としては、メチレン基、エチレン基、エチリデン基、トリメチレン基、プロピレン基（1, 2-プロパンジイル基）、イソプロピリデン基、テトラメチレン基、エチルエチレン基、ペンタメチレン基、ヘキサメチレン基を、好ましい炭素数 2～8 の直鎖または分岐の 2 価のアルケニル基の例としては、ビニレン基、ビニリデン基、プロペニレン基、1-ブテニレン基、2-ブテニレン基、1-ペンテニレン基、2-ペンテニレン基、1-ヘキセニレン基、2-ヘキセニレン基、3-ヘキセニレン基を、好ましい炭素数 2～8 の直鎖

または分岐の2価のアルキニル基の例としては、エチニレン基、プロピニレン基、1-ブチニレン基、2-ブチニレン基を挙げることができる。

#### 【0010】

本発明において、炭素数3～8の脂環式炭化水素基とは、炭素数3～8のシクロアルキル基または炭素数3～8のシクロアルケニル基のいずれかを意味する。シクロアルケニル基の二重結合の数は1または2以上である。好ましいシクロアルキル基の例としてはシクロプロピル基、シクロブチル基、シクロペンチル基およびシクロヘキシル基を、好ましいシクロアルケニル基の例としては1-シクロプロペン-1-イル基、2-シクロプロペン-1-イル基、1-シクロブテン-1-イル基、2-シクロブテン-1-イル基、1-シクロペンテン-1-イル基、2-シクロペンテン-1-イル基、3-シクロペンテン-1-イル基、1-シクロヘキセン-1-イル基、2-シクロヘキセン-1-イル基および3-シクロヘキセン-1-イル基を挙げることができる。

#### 【0011】

本発明において、炭素数3～8の2価の脂環式炭化水素基とは、炭素数3～8の2価のシクロアルキル基または炭素数3～8の2価のシクロアルケニル基のいずれかを意味する。好ましい炭素数3～8の2価のシクロアルキル基の例としては、1, 2-シクロプロピレン基、1, 2-シクロブチレン基、1, 3-シクロブチレン基、1, 2-シクロペンチレン基、1, 3-シクロペンチレン基、1, 2-シクロヘキシレン基、1, 3-シクロヘキシレン基、1, 4-シクロヘキシレン基、1, 2-シクロオクチレン基、1, 3-シクロオクチレン基、1, 4-シクロオクチレン基、1, 5-シクロオクチレン基を、好ましい炭素数3～8の2価のシクロアルケニル基の例としては、1-シクロプロペン-1, 2-エニレン基、1-シクロブテン-1, 2-エニレン基、1-シクロブテン-3, 4-イレン基、1-シクロヘキセン-1, 2-エニレン基、3-シクロヘキセン-1, 2-イレン基、4-シクロヘキセン-1, 2-イレン基、2, 5-シクロヘキサジエン-1, 4-イレン基を挙げることができる。

#### 【0012】

本発明において、炭素数6～14の芳香族炭化水素基とは、炭素数6～14の



アリール基またはアラルキル基を意味する。好ましい芳香族炭化水素基例としては、フェニル基、ベンジル基、フェネチル基、1-ナフチル基、2-ナフチル基、1-アントリル基、2-アントリル基、9-アントリル基、1-フェナントリル基、2-フェナントリル基、3-フェナントリル基、4-フェナントリル基、9-フェナントリル基等を挙げるができる。

## 【0013】

本発明において、炭素数6～14の2価の芳香族炭化水素基とは、炭素数6～14の2価のアリール基または2価のアラルキル基を意味する。好ましい炭素数6～14の2価の芳香族炭化水素基としては、*o*-フェニレン基、*m*-フェニレン基、*p*-フェニレン基、 $-o-\phi-CH_2-$ 、 $-m-\phi-CH_2-$ 、 $-p-\phi-CH_2-$ を挙げるができる。なお、上記において、 $\phi$ はベンゼン環を表す。

## 【0014】

本発明において、1個または2個以上の水酸基を有する炭素数1～8の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基とは、上記炭素数1～8の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基における任意の位置の1個または2個以上の炭素原子が水酸基を有する脂肪族炭化水素基を意味する。2個の水酸基を有する場合、1個の炭素原子に2個の水酸基が置換されていてもよい。好ましい基としては、ヒドロキシメチル基、2-ヒドロキシエチル基、1-ヒドロキシエチル基、1-ヒドロキシ-*n*-プロピル基、2-ヒドロキシ-*n*-プロピル基、3-ヒドロキシ-*n*-プロピル基、1-ヒドロキシ-1-メチルエチル基、2-ヒドロキシ-1-メチルエチル基、1-ヒドロキシ-*n*-ブチル基、2-ヒドロキシ-*n*-ブチル基、3-ヒドロキシ-*n*-ブチル基、4-ヒドロキシ-*n*-ブチル基、1-ヒドロキシ-1-メチル-*n*-プロピル基、2-ヒドロキシ-1-メチル-*n*-プロピル基、3-ヒドロキシ-1-メチル-*n*-プロピル基、1-ヒドロキシ-2-メチル-*n*-プロピル基、2-ヒドロキシ-2-メチル-*n*-プロピル基、3-ヒドロキシ-2-メチル-*n*-プロピル基、1-ヒドロキシメチル-1-メチルエチル基、2-ヒドロキシ-1, 1-ジメチルエチル基、1-ヒドロキシビニル基、2-ヒドロキシビニル基、1-ヒドロキシアリル基、2-ヒドロキシアリル基、3-ヒドロキシアリル基、2-ヒドロキシ-1-メチルビニル基、1-ヒドロキシメチル

ビニル基を挙げることができる。

【0015】

本発明において、1個または2個以上の酸アミド結合および／またはエステル結合を有する炭素数2～9の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基とは、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基のいずれかの基であって、その炭素原子が1個または2個以上の酸アミド結合および／またはエステル結合を有する基によって置換された形の基であって、合計の炭素数が2～9の直鎖または分岐の基である。好ましい基としては、アセチルオキシメチル基、2-アセチルオキシ-エチル基、3-アセチルオキシ-n-プロピル基、1-アセチルオキシ-1, 1-ジメチル-メチル基、4-アセチルオキシ-n-ブチル基、2-アセチルオキシ-1, 1-ジメチル-エチル基、3-アセチルオキシ-1-メチル-n-プロピル基、2-アセチルオキシ-2, 2-ジメチル-エチル基、プロピオニルオキシメチル基、2-プロピオニルオキシ-エチル基、3-プロピオニルオキシ-n-プロピル基、1-プロピオニルオキシ-1, 1-ジメチル-メチル基、アセトアミドメチル基、2-アセトアミド-エチル基、3-アセトアミド-n-プロピル基、1-アセトアミド-1, 1-ジメチル-メチル基、プロピオニルアミノメチル基、2-プロピオニルアミノ-エチル基、3-プロピオニルアミノ-n-プロピル基、1-プロピオニルアミノ-1, 1-ジメチル-メチル基を挙げることができる。

【0016】

本発明において、1個または2個以上の酸アミド結合および／またはエステル結合を有し、かつ1個または2個以上の水酸基を含む炭素数3～9の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基とは、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基のいずれかの基であって、その炭素原子が1個または2個以上の酸アミド結合および／またはエステル結合を有する基および1個または2個以上の水酸基によって置換された形の基であって、合計の炭素数が3～9の直鎖または分岐の基である。好ましい基の例として、(1-ヒドロキシプロピオン酸)メチル基、(1-ヒドロキシプロピオン酸)エチル基、(1-ヒドロキシプロピオンアミノ)メチル基、(1-ヒドロキシプロピオンアミノ)エチル基を挙げることができる。

## 【0017】

本発明において、上記式で表される高分子化合物の $n$ は2以上であれば良く、分離する材料等の条件により $n$ の大きさを適宜設定することができる。 $n \geq 5$ であることが望ましい。

## 【0018】

本発明の高分子化合物は、次のいずれかの方法によって得ることができる。

(1) 2-アミノエチルメタクリレートまたは2-アミノエチルメタクリレート塩酸塩などのような一級アミノ基を有するモノマーを無水酢酸、無水プロピオン酸などのような無水酸もしくはプロピルラクトン、ブチルラクトンのようなラクトン類との生成物をカラムで精製し、これをメタノール、エタノール、ジメチルスルホキシドなどの適当な溶媒中で重合する。この場合、上記式で表される高分子化合物の $R$ はモノマーの種類で大きさを変えることができ、 $R'$ は無水酸もしくはラクトンで大きさを変えることができる。

(2) 2-ヒドロキシエチルメタクリレートのような水酸基を有するモノマーと塩化アセチルや塩化プロピオニルのような酸クロライドとの反応から得られる生成物を精製したものを、メタノール、エタノール、ジメチルスルホキシドなどの適当な溶媒中で重合する。この場合、上記式で表される高分子化合物の $R$ はモノマーの種類で大きさを変えることが可能であり、 $R'$ は酸クロライドで大きさを変えることができる。

(3) 3-アミノプロパノールやアミノエタノールのようなアルキルアミノアルコールと無水酢酸、無水プロピオン酸などのような無水酸との反応生成物とアクリル酸クロライドもしくはメタクリル酸クロライドとの反応から得られた生成物を精製して、これをメタノール、エタノール、ジメチルスルホキシドなどの適当な溶媒中で重合する。この場合、 $R$ および $R'$ はアルキルアミノアルコールおよび無水酸で各々の大きさを変えることが可能である。

(4) ポリ-2-アミノエチルメタクリレートもしくはポリ-2-アミノエチルメタクリレート塩酸塩を合成してからトリエチルアミン(TEA)を含む溶媒中で無水酢酸、無水プロピオン酸などのような無水酸もしくはプロピルラクトン、ブチルラクトンのようなラクトン類と反応させても同様に得ることができる。

この場合、R' はラクトンもしくは無水酸で大きさを変えることが可能である。

【0019】

無水酸物とは無水カルボン酸を意味し、例えば、無水酢酸、無水プロピオン酸、無水酪酸、無水イソ酪酸、無水吉草酸、無水イソ吉草酸、無水カプロン酸、無水マレイン酸等を例示することができる。

【0020】

ラクトン類としては $\beta$ -プロピオラクトン、 $\gamma$ -ブチルラクトン、 $\gamma$ -バレロラクトン、 $\delta$ -バレロラクトン、 $\gamma$ -ヘキサノラクトン、 $\delta$ -ヘキサノラクトン、 $\epsilon$ -カプロラクトンや光学活性基を含む $\alpha$ -アミノ- $\gamma$ -ブチロラクトンなどを挙げる事ができる。

【0021】

アルキル酸クロライド類としては塩化アセチル、塩化プロピオニル、塩化ブチリル、塩化バレロイルなどが挙げられる。

【0022】

アミノアルキル(メタ)アクリレイト(塩酸塩)(注:アミノアルキル(メタ)アクリレイト(塩酸塩)は、アミノアルキルアクリレイト、アミノアルキルアクリレイト塩酸塩、アミノアルキルメタクリレイトまたはアミノアルキルメタクリレイト塩酸塩のいずれかを意味する)と酸無水物との反応はアルコール等の溶媒中でTEAのような塩基性の化合物を入れ、どちらか一方をゆっくり滴下しながら反応を行う。このとき反応温度は氷冷中で行い、メタノール溶媒を使用するのが望ましい。

【0023】

反応後は溶媒をエバポレーターで除去し、析出物をろ過し、カラムクロマトグラフィーにより目的物を分離した。目的物は再結晶により精製した。

精製モノマーは重合開始剤を含む、水溶液もしくは有機溶媒中で行い、重合反応後はアルコール溶媒、アセトン溶媒、エーテル溶媒中かもしくはこれらの混合溶媒中で再沈殿を行い目的のポリマーを得た。

【0024】

得られた高分子は高分子側鎖の炭素数の大きさ、分子量、塩濃度により曇点を

自由に制御できる。これらは、例えば、重合開始剤、モノマーの濃度または 3-メルカプトプロピオン酸などの連鎖移動剤の利用によって制御することが可能である。

#### 【0025】

また、他のアルキルアクリルアミドまたはアルキルメタクリルアミド、例えば、N-イソプロピルアクリルアミド、N-イソプロピルメタクリルアミド、N-n-プロピルアクリルアミド、N-n-プロピルメタクリルアミド、あるいはアルキルアクリレートまたはアルキルメタクリレート、例えば、ブチルアクリレート、ブチルメタクリレート、ヒドロキシエチルアクリレート、ヒドロキシエチルメタクリレート、グリシジルアクリレート、グリシジルメタクリレート、などとの共重合により色々な曇点を有する高分子材料を合成できる。

#### 【0026】

また、アクリル酸あるいはメタアクリル酸のようなアニオン性のモノマーあるいはアクリロキシエチルトリエチルアンモニウムメタクリロキシエチルトリエチルアンモニウムのようなカチオン性のモノマーとの共重合により pH に環境の変化によっても曇点が制御できる高分子を合成できる。

#### 【0027】

この熱感応性高分子の曇点を起こす現象としては側鎖の水和水もしくは重合体側鎖の分子内、分子間で形成される相互作用の崩壊、形成によるものと考えられる。

#### 【0028】

##### 【実施例】

以下に実施例を挙げて本発明を更に詳しく説明するが、本発明はこれによって何ら限定されるものではない。

#### 【0029】

##### 【実施例 1】 ポリアセトアミド-プロピルメタクリレートの合成

2-N-アミノエチルメタクリレート塩酸塩をメタノール溶媒中に 0.9 g 溶解させ、プロピオン酸無水物 1.0 g とトリエチルアミン (TEA) 0.9 g をこれに加え氷冷中で 4 時間撹拌を行った。反応後、エバポレーターで溶媒を除去

し、析出物をろ過し、濾液を分取した。この濾液をシリカカラムに入れ目的物を溶離液を含む部分を分取し再結晶により目的物の前駆体であるアセトアミドプロピルメタクリレート ( $\text{CH}_3\text{CONH}-(\text{CH}_2)_3-\text{O}-\text{CO}-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$ ) を精製した (収率 75%)。この前駆体 0.3 g を n-プロパノール 5 ml に溶解させ 2, 2-アゾビスイソブチルニトリル (AIBN) 6.2 mg を加え 75℃ で 12 時間、窒素雰囲気下で重合を行った。重合反応後、氷冷しその後エバポレーターで溶媒を半分除去し、アセトン溶媒中で再沈殿を行い、真空条件下で乾燥を行い、ゲル濾過カラムにより分子量 ( $M_n$ ) 3,200 の目的物を得た。乾燥後 0.1 wt % のポリ-メタクリロイル-アセチルアミノエチル-エステル水溶液を作成し、温度変化による透過率の変化を測定した (図 1)。

#### 【0030】

#### 【実施例 2】ポリ-プロピオンアミド-プロピルアクリレートの合成

3-アミノプロピルアルコールを 4 g、ジクロロメタン溶媒に 100 ml に溶解させ、プロピオン酸無水物 10 g とトリエチルアミン (TEA) 0.9 g をこれに加え 50℃ で 4 時間攪拌を行った。反応後、エバポレーターで溶媒を除去し、析出物をろ過し、濾液を分取した。この濾液をシリカカラムに入れ目的物を溶離液を含む部分を分取し再結晶により目的物の前駆体であるプロピオンアミド-プロピルアクリレート ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CONH}-(\text{CH}_2)_3-\text{O}-\text{CO}-\text{CH}=\text{CH}_2$ ) を精製した。この前駆体を 1.0 g と 2, 2-アゾビス (2-アミノジプロパン) 二塩酸 8 mg をエタノール 10 ml に溶解させ 70℃ で 3 時間重合を行った。重合反応の終了後、溶媒をエバポレーターで適当量、除去し、アルコール、酢酸エチル、アセトン溶媒で再沈殿させてポリ-プロピオンアミド-アクリレートを得た。このポリマーの 1 wt % 水溶液を作成し 90℃ の恒温槽に入れた時、溶液は白濁し、氷冷中に入れた時に透明になった。また、この現象がリバーシブルに起こることからこの高分子が水溶液中で温度応答性を示すことが確認された。

#### 【0031】

#### 【発明の効果】

本発明における分離材料による分離方法は、下記の利点を有する。

- 1) 従来のアミド系もしくはエステル系に代表されるような熱応答性高分子よりも大きな側鎖をもつ熱応答性高分子を得ることができる。
- 2) 側鎖のアルキル基の組合せによる炭素数の設計と曇点の制御を自由に行うことができる。
- 3) これにより、タンパク質等のような、様々な極性を有するタンパク質等のバイオプロダクトを分離、精製することが可能になった。

【図面の簡単な説明】

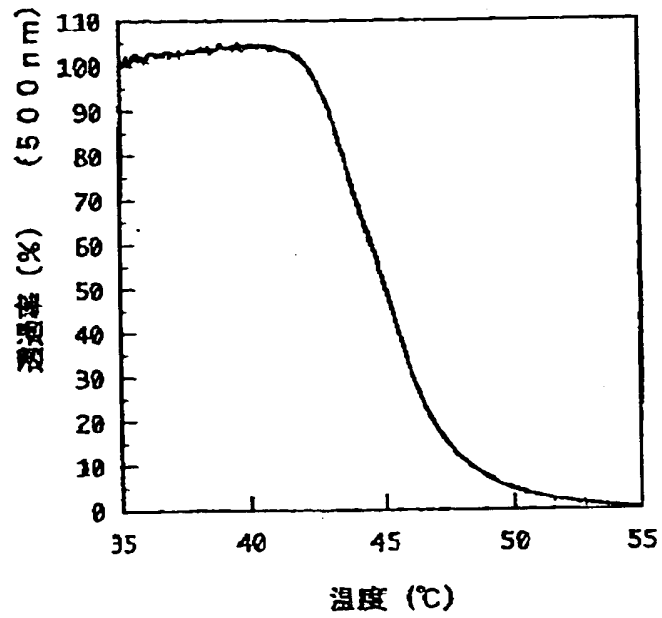
【図 1】

ポリ－メタクリロイル－アセチルアミノエチル－エステル水溶液の温度変化と透過率の変化の関係を表すグラフである。

【書類名】

図面

【図 1】





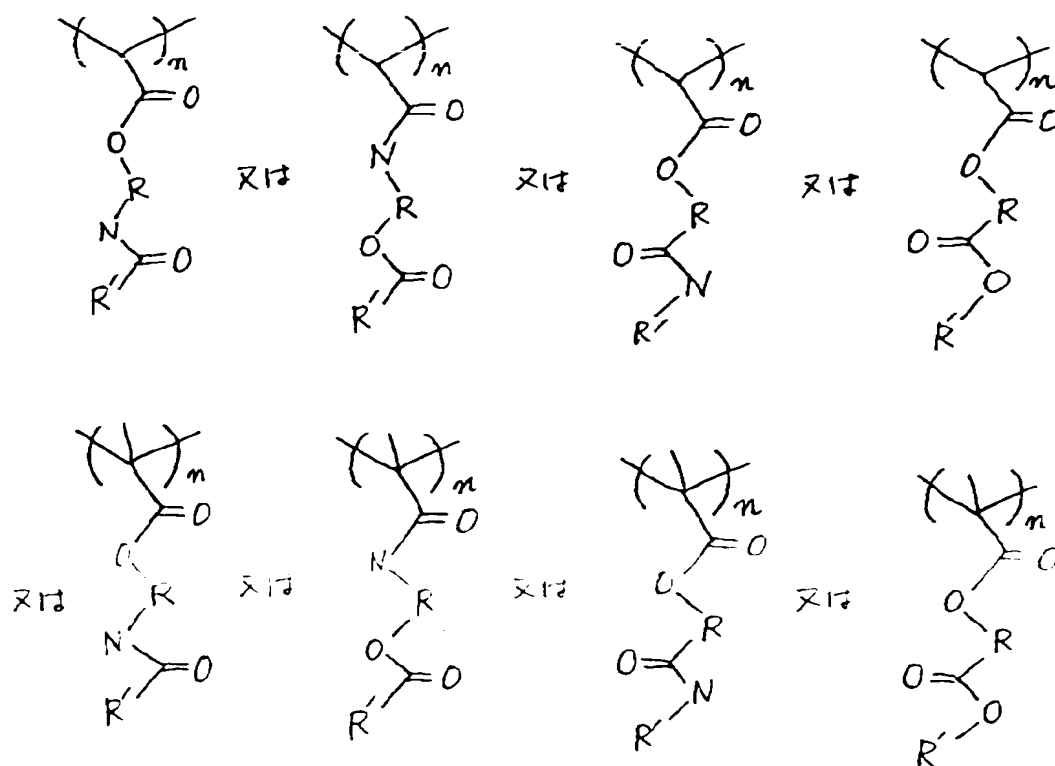
【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 側鎖にエステル結合を1カ所以上および／または酸アミド結合を1カ所以上有し、側鎖の違いで制御を自由に行うことができる熱応答性高分子材料を提供すること。

【解決手段】 下式

【化1】



(式中、Rは炭素数1～8の直鎖または分岐の2価の脂肪族炭化水素基、炭素数3～8の2価の脂環式炭化水素基または炭素数6～14の2価の芳香族炭化水素基を示し、R'は炭素数1～8の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、1個または2個以上の水酸基を有する炭素数1～8の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、1個または2個以上の酸アミド結合および／またはエステル結合を有する炭素数2～9の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、または1個または2個以上の酸アミド結合および／またはエステル結合を有し、かつ1個または2個以上の水酸基を含む炭素数3～9の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基を示し、nは2以上

の整数を表す) で表される高分子化合物を用いる。

【選択図】      なし

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [597145779]

1. 変更年月日 1998年 4月10日

[変更理由] 住所変更

住 所 東京都新宿区百人町3丁目25番1号 サンケンビルヂング  
氏 名 アマシャム ファルマシア バイオテック株式会社

